



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **86029** (13) **U**  
(51) МПК (2013.01)  
**A61K 36/00**

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2013 07355</b>	(72) Винахідник(и): <b>Козуля Сергій Валерійович (UA), Кузнецов Валентин Геннадійович (UA), Сеїтова Ремзія Сатарівна (UA), Москвіна Галина Миколаївна (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>10.06.2013</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.12.2013</b>	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.12.2013, Бюл.№ 23</b>	(73) Власник(и): <b>Козуля Сергій Валерійович, вул. Погранічників, 19, м. Сімферополь, 95011 (UA)</b>
	(74) Представник: <b>Плотнікова Марина Анатоліївна, реєстр. №290</b>

## (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ДЕЗІНФЕКЦІЙНИХ ЗАСОБІВ

### (57) Реферат:

Спосіб визначення антимікробної активності дезінфекційних засобів включає використання тест-поверхні для нанесення суспензії мікроорганізмів, підготовку тест-поверхні до обробки дезінфекційним розчином та обробку її дезінфекційним засобом, витримання часу експозиції, облік результатів шляхом підрахунку колоній на щільному живильному середовищі після термостатування. Використовують скляну тест-поверхню, на яку наносять щільне живильне середовище, а поверх нього - суспензію мікроорганізмів, далі витримують тест-поверхню при кімнатній температурі і оброблюють дезінфекційним засобом. Після експозиції виконують термостатування тест-поверхні і підраховують колонії на щільному живильному середовищі, нанесеному поверх тест-поверхні.

UA 86029 U



Корисна модель належить до області медицини, а саме до дезінфектології, мікробіології, гігієни і може бути використана для оцінки ефективності дезінфекційних засобів, призначених для знезараження поверхонь систем кондиціонування, водопостачання і водовідведення, покритих біоплівкою, видалення якої перед дезінфекцією затруднено або неможливо.

5 Як найближчий аналог вибраний спосіб визначення антимікробної активності дезінфекційних засобів (Абросимова Е.В. Дезинфекция и предстерилизационная очистка стоматологических инструментов и материалов композиционными средствами на основе четвертично-аммониевых соединений: автореф. дис. на соискание уч. степени канд. мед. наук / Абросимова Е.В. - Волгоград, 2011. - 20 с.), у якому для досліджень використовують тест-поверхню розміром 10×10 см із різних матеріалів, на яку наносять суспензію мікроорганізмів, в процесі підготовки до обробки дезінфекційним розчином тест-поверхню висушують, після обробки дезінфекційним розчином витримують час експозиції, для візуалізації результату дослідження марлевою серветкою, змоченою в розчині нейтралізатора, протирають тест-поверхню, серветку занурюють в пробірку з розчином нейтралізатора, промивною рідиною засівають щільне живильне середовище в чашці Петрі, а облік результатів проводять після термостатування впродовж 1-2 діб шляхом підрахунку кількості колоній, що вирости.

Ознаками, що співпадають з основними ознаками способу, що заявляється є: використання тест-поверхні для нанесення суспензії мікроорганізмів, підготовка тест-поверхні до обробки дезінфекційним розчином та обробка її дезінфекційним засобом, витримання часу експозиції, облік результатів шляхом підрахунку колоній на щільному живильному середовищі після термостатування.

Причинами, які перешкоджають досягненню очікуваного технічного результату (підвищення точності визначення діючої концентрації дезінфекційного засобу та відсутність хибно-негативних результатів), є: висушування суспензії мікроорганізмів у процесі підготовки тест-поверхні до обробки дезінфекційним розчином переводить мікроорганізми в стан зниженої фізіологічної активності і часткового зневоднювання, збільшуючи їх чутливість до дезінфекційних засобів і, тим самим, перевертаючи результат дослідження, візуалізація результатів дослідження відбувається після відмивання тест-поверхні з подальшим посівом промивної рідини, що при незначній кількості мікроорганізмів, що залишилися життєздатними, може дати хибно-негативний результат.

В основу корисної моделі поставлена задача, що полягає в удосконаленні найближчого аналога шляхом заміни матеріалу і площі тест-поверхні, способу нанесення мікроорганізмів на тест-поверхню, способу підготовки тест-поверхні до обробки дезінфекційним розчином і способу візуалізації результатів дослідження, що дозволяє досягти очікуваний технічний результат.

35 Поставлена задача вирішується тим, що в способі визначення антимікробної активності дезінфекційних засобів, що включає використання тест-поверхні для нанесення суспензії мікроорганізмів, підготовку тест-поверхні до обробки дезінфекційним розчином та обробку її дезінфекційним засобом, витримання часу експозиції, облік результатів шляхом підрахунку колоній на щільному живильному середовищі після термостатування, згідно з корисною моделлю, використовують скляну тест-поверхню розміром 3×7,5 см, на яку наносять щільне живильне середовище, а поверх нього - суспензію мікроорганізмів, далі витримують тест-поверхню при кімнатній температурі впродовж 10-15 хвилин і обробляють дезінфекційним засобом, після експозиції виконують термостатування тест-поверхні і підраховують колонії на щільному живильному середовищі, нанесеному поверх тест-поверхні.

45 Між сукупністю суттєвих ознак запропонованого способу і технічним результатом, який може бути досягнутий, проявляється наступний причинно-наслідковий зв'язок: зменшення розміру тест-поверхні з 10×10 см до 3×7,5 см дозволяє термостатувати одночасно 2 тест-поверхні всередині стандартної чашки Петрі діаметром 9 см, що попереджає висихання щільного живильного середовища, нанесеного поверх тест-поверхні; нанесення на тест-поверхню спочатку щільного живильного середовища, а потім суспензії мікроорганізмів не тільки імітує біоплівку, що має в своєму складі живильні субстрати, але також дозволяє вивчати ефективність дезінфекційних розчинів на життєздатних, а не ослаблених, мікроорганізмах; при підготовці тест-поверхні до обробки дезінфекційним розчином вона витримується при кімнатній температурі впродовж 10-15 хвилин тільки до видалення надлишку вологи з поверхні щільного живильного середовища, а не до повного висушування, що також дозволяє не допустити ослаблення життєздатності мікроорганізмів і підвищення їх чутливості до дезінфекційних розчинів; для візуалізації результатів дослідження виконують термостатування самої тест-поверхні з наступним підрахунком колоній на щільному живильному середовищі, нанесеному поверх тест-поверхні, що дозволяє виключити етап відмивання тест-поверхні з подальшим посівом промивної рідини, що суттєво зменшує ймовірність хибно-негативного результату.

Запропонований спосіб, в порівнянні з найближчим аналогом дає можливість вивчати ефективність дезінфекційних розчинів на мікроорганізмах, не ослаблених висушуванням, та дозволяє підвищити точність й уникнути хибно-негативних результатів.

Спосіб виконують наступним чином.

- 5 Стерильною мірною пробіркою відміряють 3 см<sup>3</sup> звареного або розтопленого щільного живильного середовища, приготовленого згідно рецептури, рекомендованої для використаного штаму мікроорганізмів і наносять на тест-поверхню - стерильне предметне скельце 30×75 мм і витримують до застигання. На поверхню середовища наносять 0,1 мл добової бульйонної культури мікроорганізмів, розведеної за стандартом мутності 10 міжнародних одиниць, що
- 10 відповідає  $0,93 \times 10^9$  клітин в мл, після чого тест-поверхню залишають на 15 хвилин при кімнатній температурі для видалення надлишку вологи з поверхні середовища. Установлену на підставку тест-поверхню оброблюють дезінфекційним розчином. Після експозиції залишок дезінфекційного розчину видаляють шляхом зрошення стерильним фізіологічним розчином хлориду натрію. В цілях підвищення достовірності результату, оцінку ефективності
- 15 дезінфекційних засобів проводять одночасно на двох тест-поверхнях. Для запобігання висихання тест-поверхні укладають по дві штуки в чашку Петрі, яку термостатують при температурі 37 °C упродовж 1-2 діб залежно від виду мікрофлори. Облік результатів проводять шляхом підрахунку колоній на живильному середовищі.

- 20 Для об'єктивної оцінки ефективності заявленого способу була проведена оцінка ефективності дезінфекційного засобу "Сурфаніос", виробничого ТОВ "Дезант", Україна; свідоцтво про державну реєстрацію дезінфекційного засобу 05.03.02-08/66 від 01.12.2011. У найближчому аналозі як нейтралізатор застосовувався розчин 0,5 % лаурилсульфату натрію (сульфонол, ТУ 07510508. 135-98, виробництво ТОВ "Югсинтез", Дніпропетровськ). Також проводився контроль стерильності середовища і ростових якостей тест-культури. У всіх
- 25 випадках час впливу дезінфекційного засобу на мікрофлору, тобто експозиція, становила 15 хвилин.

Результати оцінки ефективності дезінфекційного засобу "Сурфаніос" за впливом на музейні культури *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*, наведені в таблиці 1.

- 30 Як видно із представлених даних, моделювання умов біоплівки пред'являє до дезінфекційного засобу більш жорсткі вимоги. При проведенні досліджень способом-прототипом, "Сурфаніос" проявляв бактерицидний ефект у відношенні *Escherichia coli* і *Staphylococcus aureus* до 0,25 % розведення включно. Одиничні колонії відмічались у 0,2 % розведенні. У відношенні *Pseudomonas aeruginosa* дезінфектант показав більш високу
- 35 ефективність - ріст мікрофлори пригнічувався до концентрації 0,2 % включно, а одиничні колонії реєструвались, починаючи з 0,15 % розведення. При застосуванні більш низьких концентрацій, до 0,125 % відмічався суцільний ріст.

- 40 При використанні запропонованого способу визначення антимікробної активності дезінфекційних засобів, дезінфекційний засіб закономірно демонстрував меншу ефективність. Ріст *Staphylococcus aureus* пригнічувався до концентрації 0,325 % включно. При застосуванні 0,3 % розчину спостерігались колонії, які піддавалися підрахунку, і переходили в суцільний ріст при концентрації 0,25 %. У відношенні *Escherichia coli* і *Pseudomonas aeruginosa* бактерицидний ефект зберігався до концентрації 0,25 % включно. При використанні 0,2 % розчину дезінфекційного засобу відмічалось число колоній, що піддавалося підрахунку і переходило в
- 45 суцільний ріст при використанні 0,15 % концентрації засобу "Сурфаніос".

- 50 Таким чином, запропонований спосіб наочно продемонстрував, що для знищення біоплівок *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus* на об'єктах, які, в силу ряду причин, попередньо неможливо від них очистити, наприклад, в деяких вузлах систем водопостачання, водовідведення і кондиціонування, необхідно використовувати "Сурфаніос" в концентрації 0,325 % і більше. Використовуючи для даної цілі спосіб найближчого аналога, ми могли б зробити помилковий висновок щодо достатності 0,25 % концентрації даного дезінфекційного засобу, що призвело б до недостатньої ефективності дезінфекційних заходів.

- 55 Спосіб визначення антимікробної активності дезінфекційних засобів, який заявляється, дуже ефективний, оскільки дозволяє більш точно оцінити ефективність їх застосування та економічно вигідний, оскільки нейтралізатор дезінфекційного засобу не потрібний, а витрата живильних середовищ знижується в 38 разів. Для описаних вище порівняльних досліджень семи концентрацій дезінфекційного засобу на три тестові культури було витрачено 4,94 літра живильного середовища. Із них на дослідження за способом найближчого аналога - 4,81 літрів, за запропонованим способом - 0,13 літра, що наочно демонструє економічну ефективність

заявленого способу. Даний спосіб може найти широке застосування в бактеріологічних лабораторіях.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 5 Спосіб визначення антимікробної активності дезінфекційних засобів, що включає використання тест-поверхні для нанесення суспензії мікроорганізмів, підготовку тест-поверхні до обробки дезінфекційним розчином та обробку її дезінфекційним засобом, витримання часу експозиції, облік результатів шляхом підрахунку колоній на щільному живильному середовищі після термостатування, який **відрізняється** тим, що використовують скляну тест-поверхню розміром 10 3×7,5 см, на яку наносять щільне живильне середовище, а поверх нього - суспензію мікроорганізмів, далі витримують тест-поверхню при кімнатній температурі впродовж 10-15 хвилин і оброблюють дезінфекційним засобом, після експозиції виконують термостатування тест-поверхні і підраховують колонії на щільному живильному середовищі, нанесеному поверх 15 тест-поверхні.

---

Комп'ютерна верстка М. Мацело

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601